

Physikalisch- Technische Bundesanstalt



DKD

**Expertenbericht Einfluss der Höhenlage auf das
DKD-E 8-3 Volumenergebnis einer Kolben-
Hubpipette mit Luftpolster**

Christoph Spälti, Marc Polin, Susanne Finkbeiner

Ausgabe 09/2013

Herausgegeben vom Deutschen Kalibrierdienst (DKD) unter der Schirmherrschaft der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt (PTB).

Copyright © 2013 by DKD

Das Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung außerhalb der engen Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist ohne Zustimmung unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen und Übersetzungen.

Deutscher Kalibrierdienst (DKD)

Im DKD waren Kalibrierlaboratorien von Industrieunternehmen, Forschungsinstituten, technischen Behörden, Überwachungs- und Prüfinstitutionen seit der Gründung 1977 zusammengeschlossen. Am 03. Mai 2011 erfolgte die Neugründung des DKD als *technisches Gremium* der PTB und den akkreditierten Laboratorien.

Dieses Gremium trägt die Bezeichnung Deutscher Kalibrierdienst (DKD) und steht unter der Leitung der PTB. Die vom DKD erarbeiteten Richtlinien und Leitfäden stellen den Stand der Technik auf dem jeweiligen technischen Fachgebiet dar und stehen der Deutschen Akkreditierungsstelle GmbH (DAkkS) für die Akkreditierung von Kalibrierlaboratorien zur Verfügung.

Die akkreditierten Kalibrierlaboratorien werden von der DAkkS als Rechtsnachfolgerin der Akkreditierungsstelle des DKD akkreditiert und überwacht. Sie führen Kalibrierungen von Messgeräten und Maßverkörperungen für die bei der Akkreditierung festgelegten Messgrößen und Messbereiche durch. Die von ihnen ausgestellten Kalibrierscheine sind ein Nachweis für die Rückführung auf nationale Normale, wie sie von der Normenfamilie DIN EN ISO 9000 und der DIN EN ISO/IEC 17025 gefordert wird.

Kalibrierungen der akkreditierten Laboratorien geben dem Anwender Sicherheit für die Verlässlichkeit von Messergebnissen, erhöhen das Vertrauen der Kunden und die Wettbewerbsfähigkeit auf dem nationalen und internationalen Markt und dienen als messtechnische Grundlage für die Mess- und Prüfmittelüberwachung im Rahmen von Qualitätssicherungsmaßnahmen.

Veröffentlichungen: siehe Internet

Kontakt:

Deutscher Kalibrierdienst (DKD)
unter Schirmherrschaft der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt (PTB)
Geschäftsstelle in der PTB
Bundesallee 100 38116 Braunschweig
Postfach 33 45 38023 Braunschweig
Telefon Sekretariat: (05 31) 5 92-83 06
Internet: www.dkd.eu

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Vorwort	4
1. Kurzfassung	5
2. Ausgangslage	5
3. Einsetzung und Ziel der Studie	5
4. Durchführung	6
5. Messergebnisse	8
6. Analyse der Messergebnisse	12
7. Ursache	11
8. Berechnete Kompensation	12
9. Zusammenfassung	15
10. Danksagung	15
11. Anhänge /Referenzen	16

Vorwort

DKD-Expertenberichte verfolgen das Ziel Hintergrundinformationen und Hinweise zu geben, die im Zusammenhang mit anderen DKD-Dokumenten stehen, wie z. B. den DKD-Richtlinien, und spezielle Aspekte eingehender behandeln. Sie ersetzen die originären DKD-Dokumente nicht, geben jedoch zahlreiche wissenswerte Zusatzinformationen. In den Expertenberichten wird die Sichtweise der Autoren wiedergegeben, die nicht notwendigerweise in allen Details der Sichtweise des Vorstands oder der Fachausschüsse des DKD entsprechen muss.

Die DKD-Expertenberichte sollen wesentliche Aspekte aus dem Bereich des Kalibrierwesens darstellen und durch die Publikation im Rahmen des DKD der großen Gemeinschaft der Kalibrierlaboratorien national und international zugänglich gemacht werden.

Der vorliegende DKD-Expertenbericht wurde vom Vorstand des DKD im September 2012 genehmigt.

Autor:

Christoph Spälti, Spaelti-TS AG, Wiesenstrasse 13, CH-5412 Gebenstorf

Co-Autoren:

Marc Polin, Spaelti-TS AG, Wiesenstrasse 13, CH-5412 Gebenstorf,

Susanne Finkbeiner, Spaelti-TS AG, Wiesenstrasse 13, CH-5412 Gebenstorf

1. Kurzfassung

In einer Studie wurde der Nachweis erbracht, dass die Höhenlage des Messplatzes bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster das Messresultat beeinflusst.

- Ist eine Pipette bei 1013 hPa korrekt einjustiert ($V_{20} = V_s$), wird die gleiche Pipette bei einem Luftdruck von ca. 850 hPa (ca. 1500 müM) ein effektives Volumen abgeben, welches nahe der Untergrenze der zulässigen systematischen Abweichung gemäss ISO 8655 liegt.
- Kolbenhubpipetten mit Luftpolster sollten am vorgesehenen Einsatzort justiert und kalibriert werden.

Für Vergleichsmessungen zwischen Prüflaboratorien (Zum Beispiel für Ringversuche) kann das gemessene Resultat auf die gleiche Höhenlage wie das Pilotlabor korrigiert werden. Die Studie zeigt die Genauigkeit des Korrekturfaktors auf.

- Für Vergleichsmessungen kann der ermittelte Messwert korrigiert werden, es müssen jedoch das genaue Totvolumen und die Steighöhe bekannt sein. Diese zwei Werte müssen im Messunsicherheitsbudget berücksichtigt werden.

2. Ausgangslage

Ein Arbeitskreis, gebildet aus Mitgliedern vom Fachausschuss Masse des DKD (Deutscher Kalibrierdienst), befasste sich mit den Einflüssen auf die Messunsicherheit bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten. Dabei wurde festgestellt, dass ungenügende Angaben über den Einfluss auf die Messunsicherheit aufgrund des geographischen Standortes des Messplatzes bestehen. Mit zunehmender Höhe über Meer nimmt der Luftdruck ab und beeinflusst die Messung.

3. Einsetzung und Ziel der Studie:

Mit Versuchen soll das Verhalten der Pipetten in verschiedenen Höhenlagen getestet werden, indem man bestimmte Pipetten in verschiedenen Höhenlagen kalibriert.

Um den Einfluss von Prüfer, Waage, Pipette, Wasser und Umgebung einzuschränken, wurden immer die gleichen Pipetten durch die gleichen Prüfer am gleichen Messplatz in verschiedenen Höhenlagen kalibriert. Der Messplatz wurde an den verschiedenen Standorten installiert und kalibriert.

4. Durchführung:

Die Studie wurde von der Spaelti-TS AG durchgeführt. Spaelti-TS AG ist eine durch das SAS akkreditierte Prüfstelle für Volumen. Sie führte die Kalibrierungen durch und war für die Auswertung der Ergebnisse zuständig.

Zwei Prüfer waren verantwortlich für die Messplatzeinrichtung, deren Kalibrierung und die Durchführung der Kalibrierungen an folgenden Standorten:

Gebenstorf 360 m.ü.M. mittlerer absoluter Luftdruck 969 hPa

Thusis 740 m.ü.M mittlerer absoluter Luftdruck 924 hPa

Samedan 1720 m.ü.M. mittlerer absoluter Luftdruck 817 hPa

Jungfrauoch 3460 m.ü.M. mittlerer absoluter Luftdruck 657 hPa

Die Messungen wurden zwischen dem 5. April und dem 10. Mai 2011 durchgeführt.

Messplatz:

Der Messplatz bestand aus:

Waage Mettler WXTS205DU mit Verdunstungsschutz

Thermometer Testo

Feuchtemessgerät Elpro ECOLOG TH1

Druckmessgerät Vacuubrand DVR 2

Der Messbereich für diesen Messplatz ist zwischen 10 µl und 10 ml begrenzt.

Der Messplatz wurde an jedem Standort aufgebaut und die Installation erfolgreich qualifiziert. Grundlage für die Qualifizierung war die Norm ISO8655 [1] und die Vorgaben aus der Richtlinie DKD-R 8-1 [2] (zur Zeit der Prüfungen noch als Entwurf).

Prüflinge:

Erkennung	Kolbenhub-pipette	Volumen	Betätigung	Spitzentyp	Max Volumen der Spitze
SpaH_01	Variabel	2 bis 20 µl	Manuell	Crystal	20 µl
SpaH_02	Variabel	2 bis 20 µl	Manuell	Gelb	200 µl
SpaH_06	Variabel	10 bis 100 µl	Manuell	Gelb	200 µl
SpaH_11	Variabel	10 bis 100 µl	Manuell	Gelb	200 µl
SpaH_12	Fix	100 µl	Manuell	Gelb	200 µl
SpaH_03	Variabel	50 bis 1000 µl	Elektronisch	Blau	1000 µl
SpaH_07	Variabel	50 bis 1000 µl	Elektronisch	Blau	1000 µl
SpaH_08	Variabel	50 bis 1000 µl	Elektronisch	Blau	1000 µl
SpaH_05	Variabel	100 bis 1000 µl	Manuell	Blau	1000 µl
SpaH_09	Variabel	100 bis 1000 µl	Manuell	Blau	1000 µl
SpaH_10	Variabel	100 bis 1000 µl	Manuell	Blau	1000 µl
SpaH_04	Variabel	1 bis 10 ml	Manuell		10 ml

Es wurden immer die vom jeweiligen Pipettenhersteller empfohlenen Spitzen in der Standardausführung (ohne Filter / keine extra lange oder extra kurze Ausführung) verwendet.

Die Prüflinge wurden nach erfolgreichem Einsatz an den verschiedenen Standorten durch die jeweiligen Hersteller erfolgreich geprüft.

Prüfungen

Die Prüfungen wurden gemäss der Norm ISO 8655 und der Richtlinie DKD-R 8-1 (zur Zeit der Prüfungen noch in Entwurffassung) durchgeführt. Insbesondere wurden die Messunsicherheiten gemäss DKD-R 8-1 bestimmt.

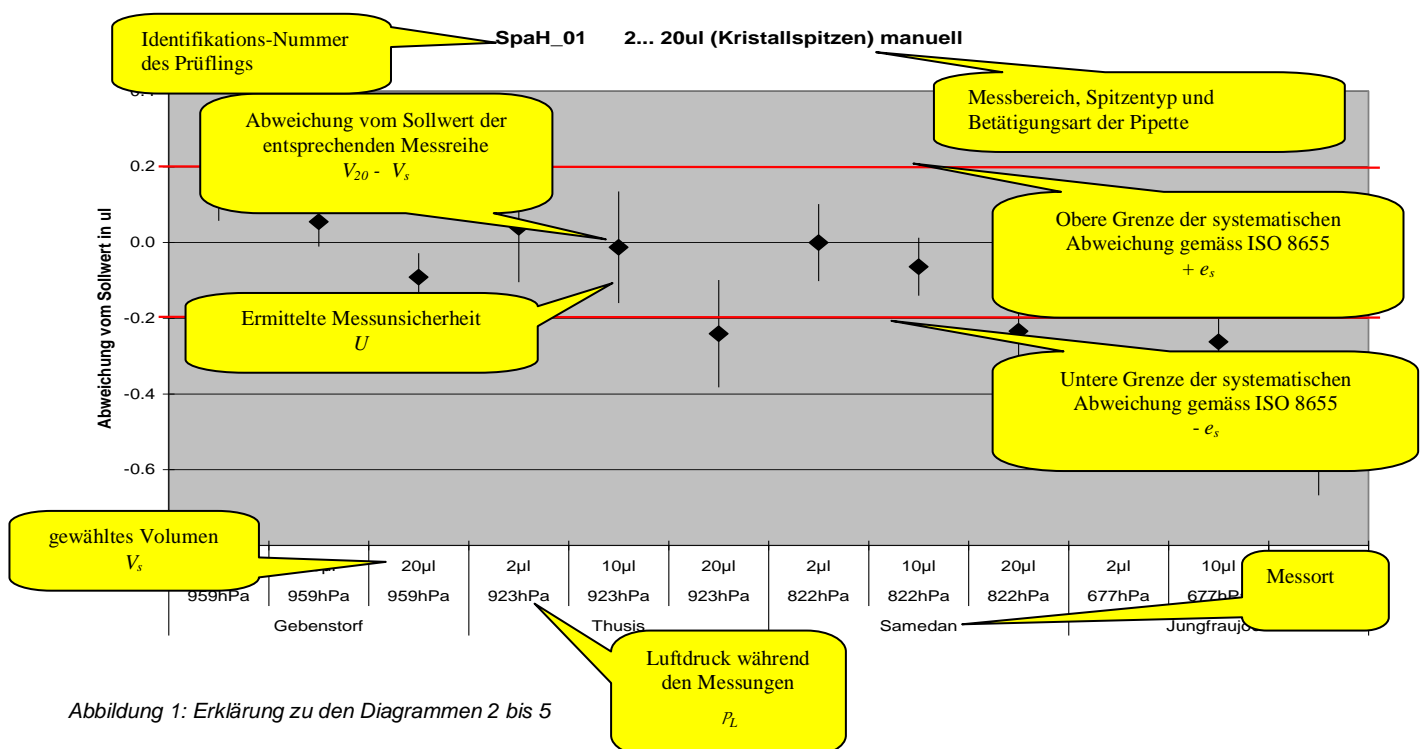
5. Messergebnisse

Die detaillierten und vollständigen Messergebnisse an den verschiedenen Standorten sind im Anhang 1 in Diagrammform dargestellt.

Erklärung zu den Diagrammen:

<u>Abkürzung</u>	<u>Erläuterung</u>
e_s	Systematische Messabweichung
P_L	Luftdruck
V_{20}	Volumen bei der Bezugstemperatur von 20°C
V_s	gewähltes Volumen
V_T	Volumen des Luftpolsters (Totvolumen)
U	erweiterte Messunsicherheit ($k=2$)

Erklärungen zu den Diagrammen sind in Abbildung 1 dargestellt.



Ergänzende Bemerkungen zu den Messergebnissen:

Der Messplatz war nicht ausgelegt für Messungen unter 10 µl, wegen der Auflösung der Waage. Es wurden trotzdem Messungen unter 10 µl gemacht, im Messunsicherheitsbudget wurde ein entsprechender Beitrag eingerechnet.

Am Messort Thusis wurde die erforderliche Feuchte von 50 % r.H. aus technischen Gründen nicht erreicht. Gemessen wurde bei ca. 40 % r.H. Die Messunsicherheit wurde entsprechend angepasst.

6. Analyse der Messergebnisse

Die nachfolgenden Feststellungen treffen auf alle Pipetten zu:

6.1 Das abgegebene Volumen nimmt mit zunehmender Höhe über Meer ab, wobei sich die Abnahme vom Volumen und der abnehmende Luftdruck linear verhalten (Abbildung 2).

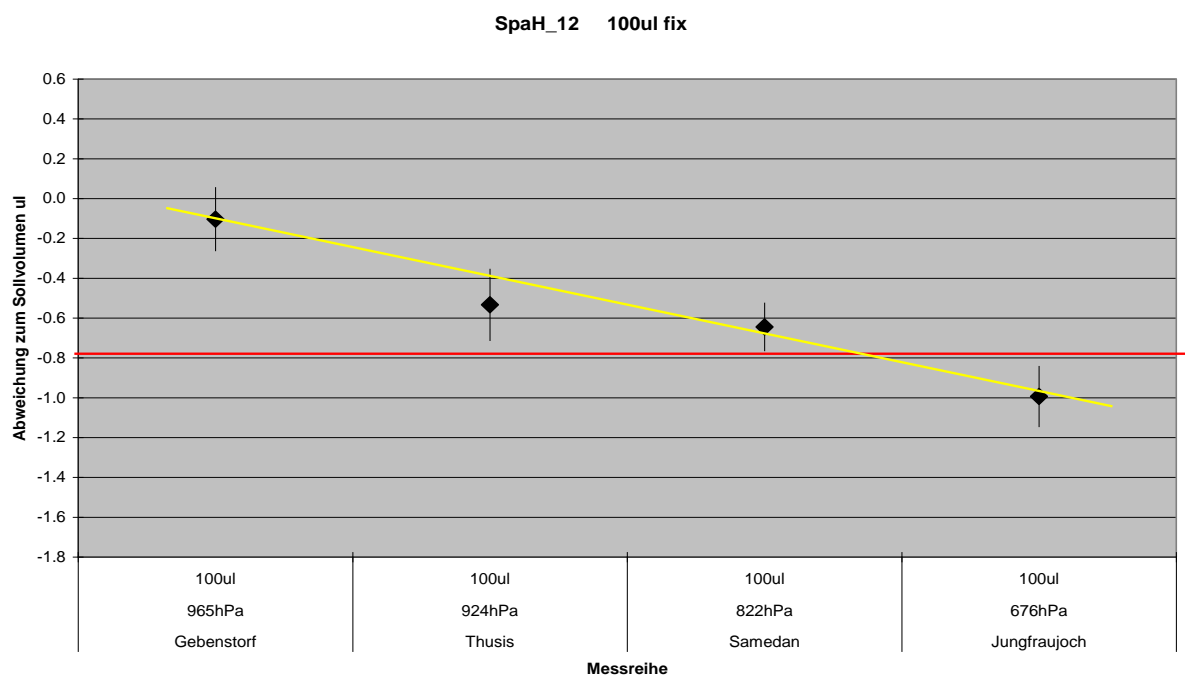


Abbildung 2: Abgegebenes Volumen in Abhängigkeit der Höhe

6.2 Einstellbare Pipetten verhalten sich unterschiedlich, je nach eingestelltem Volumen (Abbildung 3).

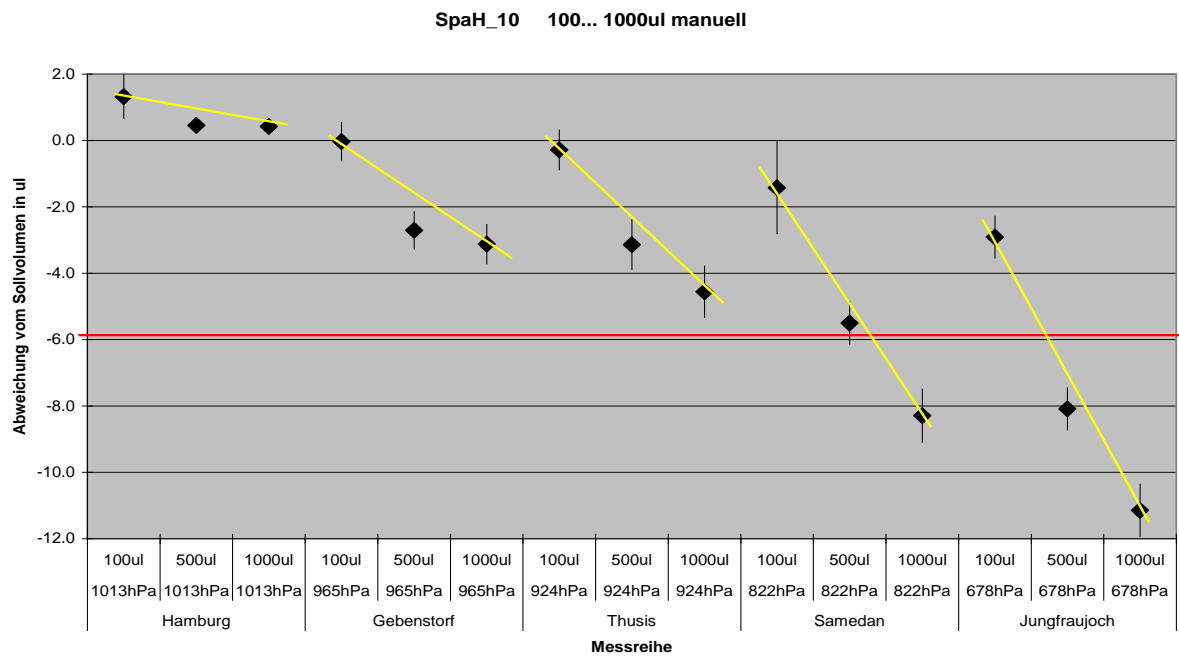


Abbildung 3: Einstellbare Pipetten in Abhängigkeit des eingestellten Volumens

6.3 Pipetten mit gleichem Nennvolumen aber von verschiedenen Herstellern haben unterschiedliche Abweichungen (Abbildung 4 & 5).

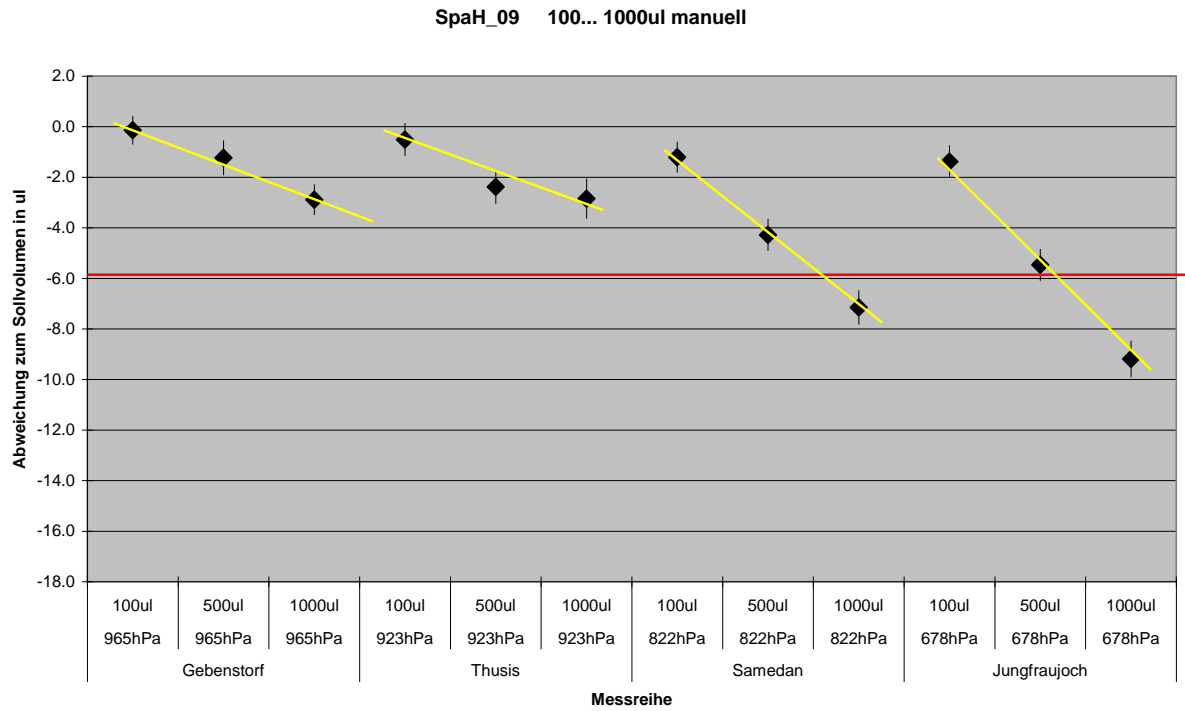


Abbildung 4: Abweichungen von Pipetten gleichen Nennvolumens von unterschiedlichen Herstellern

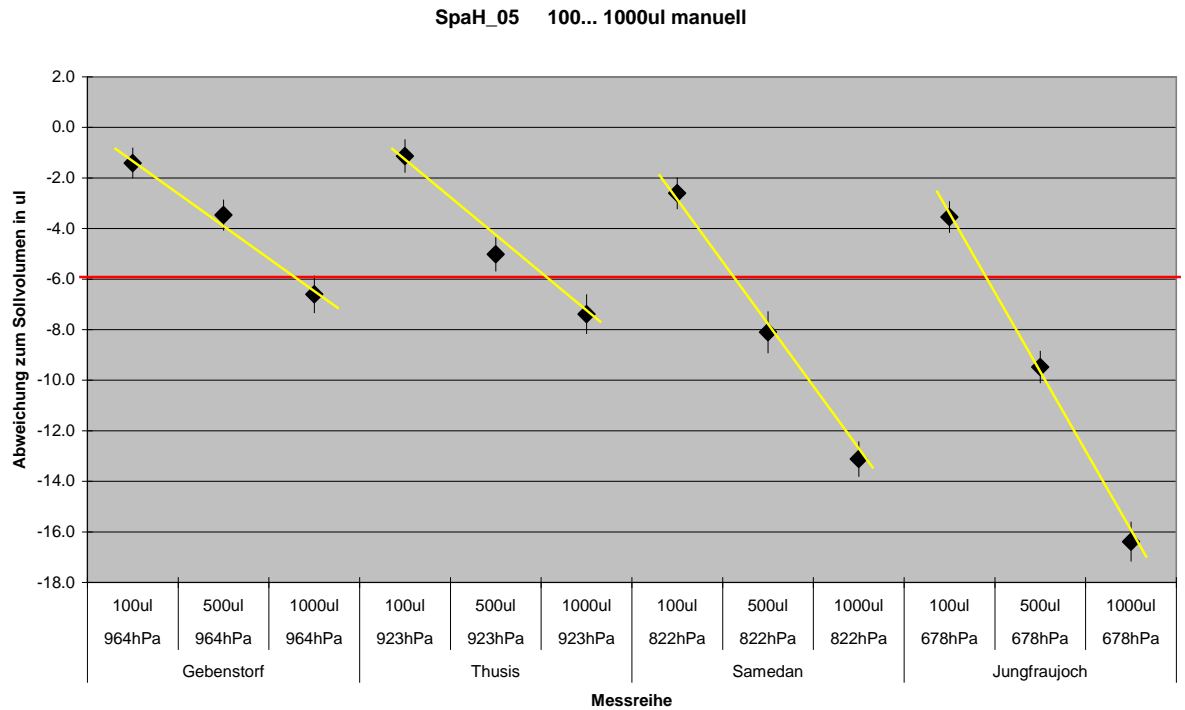
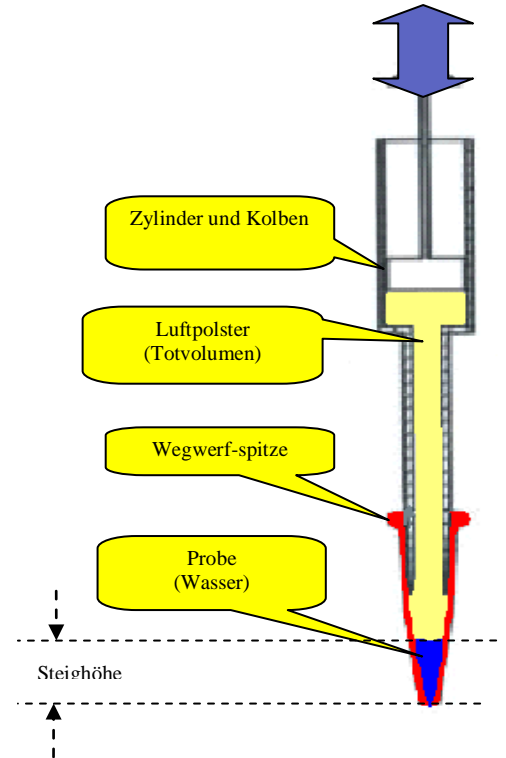


Abbildung 5: Abweichungen von Pipetten gleichen Nennvolumens von unterschiedlichen Herstellern

7. Ursache

Die Volumenänderung bei unterschiedlichen Höhen wird zur Hauptsache durch das Luftpolster in der Pipette und der Menge der dosierten Flüssigkeit (Wasser) bestimmt.

- **Einfluss des Luftpolsters:**
Mit abnehmendem Luftdruck vermindert sich die Dichte des Luftpolsters sehr stark (ca. 10 % Abnahme pro 1000 m Höhendifferenz). Die Dichte der dosierten Flüssigkeit verändert sich nur unwesentlich (ca. 0.01 % pro 1000 m Höhendifferenz). Die Größe des Luftpolsters hat einen wesentlichen Einfluss auf das abgegebene Volumen.
- **Einfluss der Menge der dosierten Flüssigkeit:**
Dieser Einfluss ist nur bei variablen Pipetten sichtbar.
Die dosierte Flüssigkeit „hängt“ mit Ihrem Gewicht am Totvolumen (Luftpolster). Je grösser die Steighöhe der dosierten Flüssigkeit, umso ungünstiger wird das Verhältnis Dichte des Luftpolsters zu Dichte der dosierten Flüssigkeit.



In Abbildung 3 kann dieser Fehlereinfluss anhand der Trendlinien erkannt werden.

In Hamburg ist die Trendlinie praktisch waagrecht, bei geringem Luftdruck (Jungfrauoch) ist die Trendlinie stark geneigt.

8. Berechnete Kompensation

Sind Totvolumen und Steighöhe der Flüssigkeitssäule in der Pipettenspitze bekannt, kann anhand der folgenden Formel eine Korrektur berechnet werden:

$$\Delta V = -V_T \cdot P_W \cdot g \cdot h_w \cdot \left(\frac{1}{P_{L,X2} - P_W \cdot g \cdot h_w} - \frac{1}{P_{L,X1} - P_W \cdot g \cdot h_w} \right)$$

Formelzeichen Erklärung

ΔV	Volumenänderung, die sich bei Kalibrierung an einem Ort X_1 gegenüber einem Ort X_2 ergibt.
V_T	Volumen des Luftpolsters
g	Fallbeschleunigung
h_w	Steighöhe der Flüssigkeitssäule in der Pipettenspitze
ρ_L	Luftdichte
ρ_w	Dichte des als Prüfflüssigkeit verwendeten Wassers
X_1	Ort 1 (in diesem Dokument 0 müM mit Luftdruck 1013,25 hPa)
X_2	Ort 2 (in diesem Dokument der jeweilige Messort mit unterschiedlicher Höhe)

Die Steighöhe der Flüssigkeit ist abhängig von der verwendeten Spitze und der verwendeten Pipette. Sie kann einfach mit einem Messschieber gemessen werden.

Das Totvolumen wird bestimmt durch die Konstruktion der Pipette und der verwendeten Spitze. Es muss durch den Konstrukteur der jeweiligen Pipette berechnet werden. Für diese Studie lagen nur ungenügende Angaben vor. Es wurden darum für die nachfolgenden Diagramme folgende Werte eingesetzt:

Pipette	Spitze	Totvolumen	Steighöhe bei	Steighöhe bei	Steighöhe bei
2... 20 µl	Crystal (20 µl)	360 µl	26 mm / 20 µl	19 mm / 10 µl	8 mm / 2 µl
2... 20 µl	Gelb (200 µl)	320 µl	15 mm / 20 µl	10 mm / 10 µl	5 mm / 2 µl
10... 100 µl	Gelb (200 µl)	410 µl	29 mm / 100 µl	21mm / 50 µl	29 mm / 10 µl
100 µl Fix	Gelb (200 µl)	410 µl	30 mm / 100 µl		
100...1000 µl	Blau (1000 µl)	2700 µl	50 mm / 1000 µl	34 mm / 500 µl	19 mm / 100 µl
1... 10 ml	(10 ml)	17800 µl	130 mm / 10 ml	89 mm / 5 ml	40 mm / 1ml

Die Diagramme (Abbildung 6 bis 10) zeigen die Messwerte (unteres Ende der fetten Säule) und die berechnete Volumenänderung (oberes Ende der fetten Säulen). Die Messwerte, ermittelt an den verschiedenen Standorten, sind mit dieser Korrektur genauer vergleichbar.

SpaH_12 100ul fix

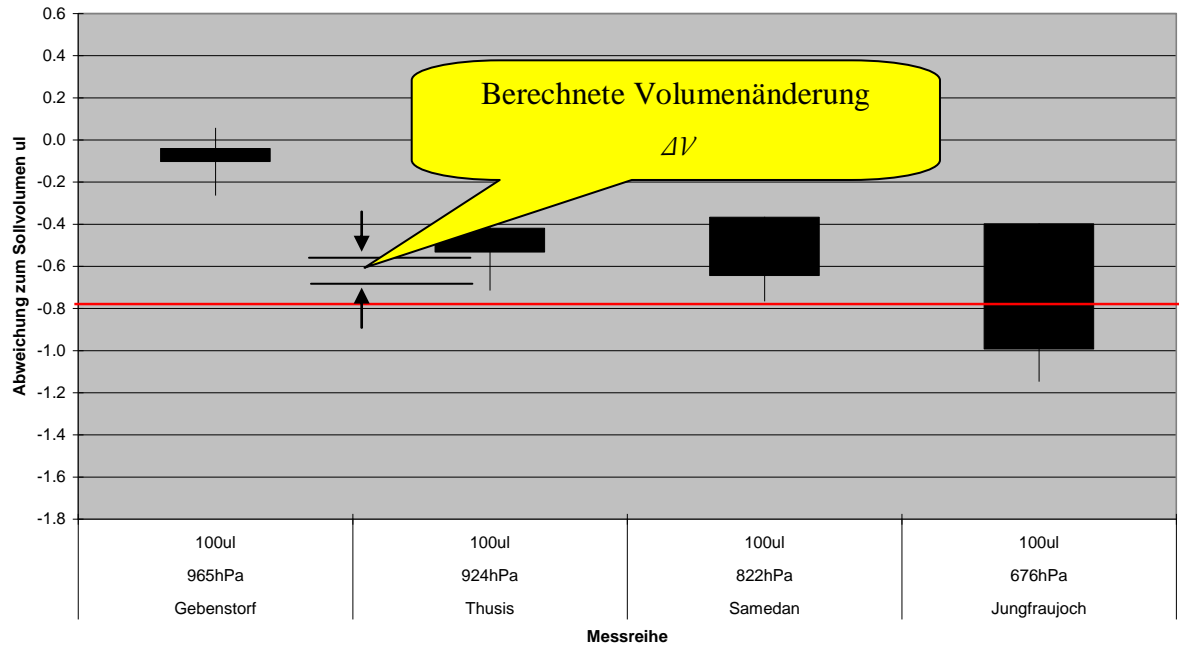


Abbildung 6: Erklärung zu den Diagrammen 7 bis 10

SpaH_02 2... 20ul (gelbe Spitzen) manuell

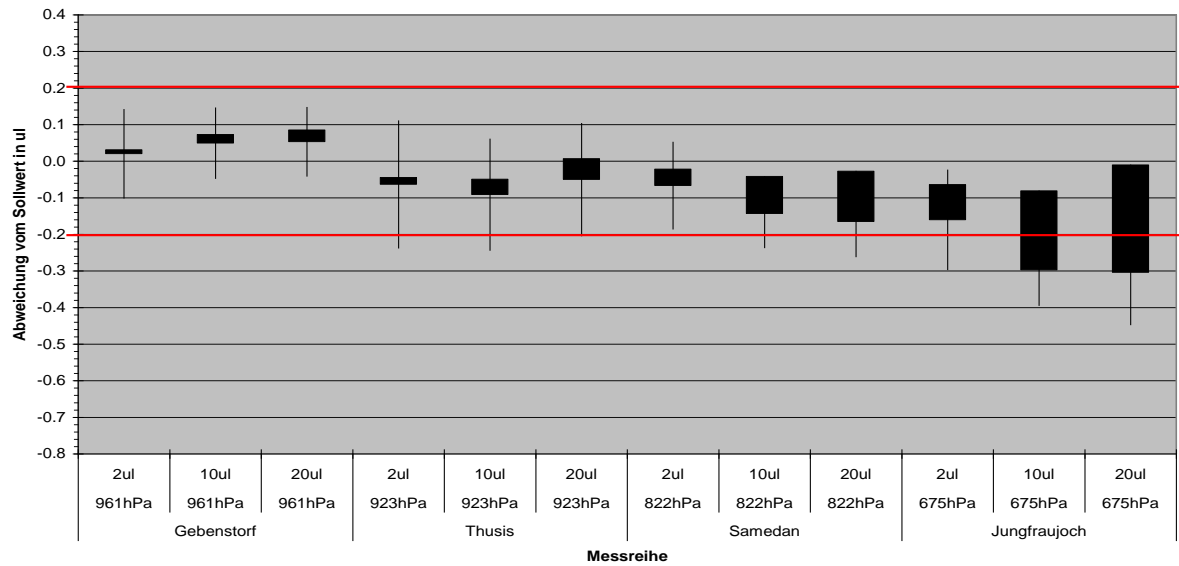


Abbildung 7: Ergebnisse für 2 bis 20 µl, manuell

SpaH_11 10... 100ul manuell

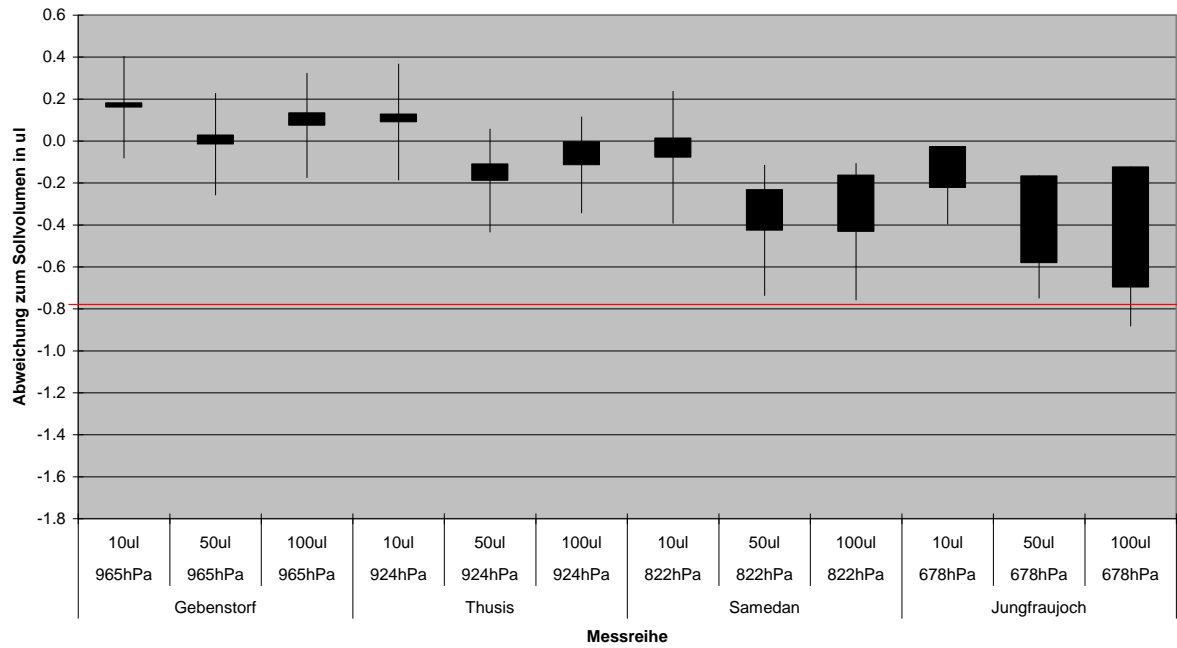


Abbildung 8: Ergebnisse für 10 bis 100 μ l, manuell

SpaH_07 100... 1000ul elektronisch

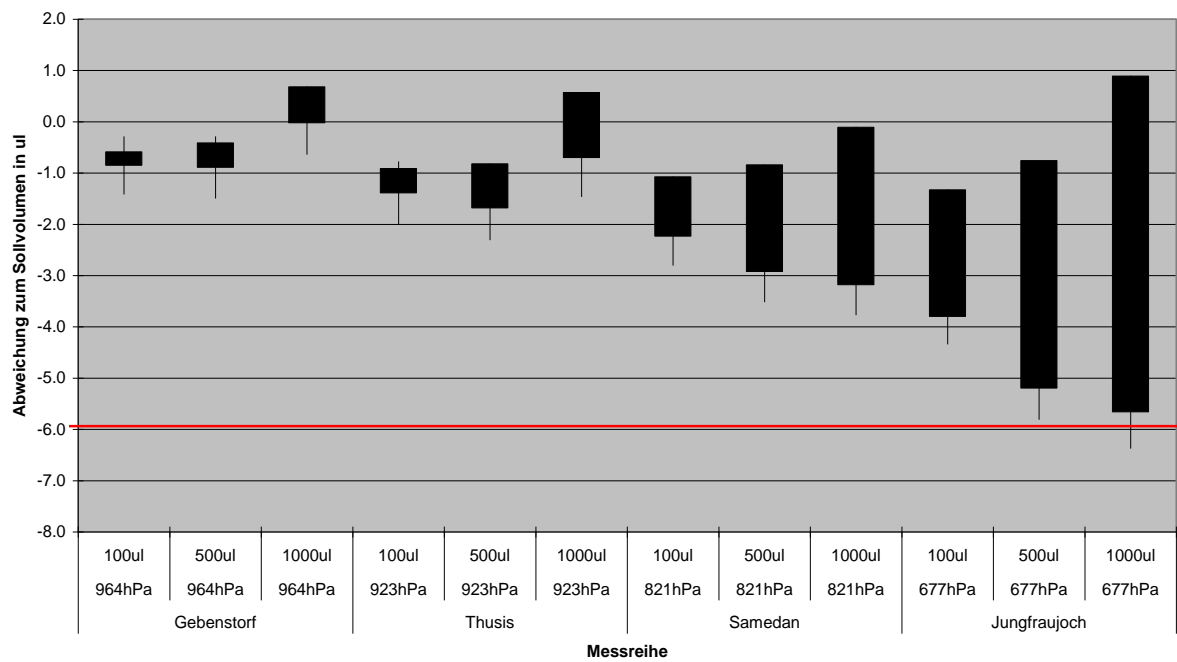


Abbildung 9: Ergebnisse für 100 bis 1000 μ l, elektronisch

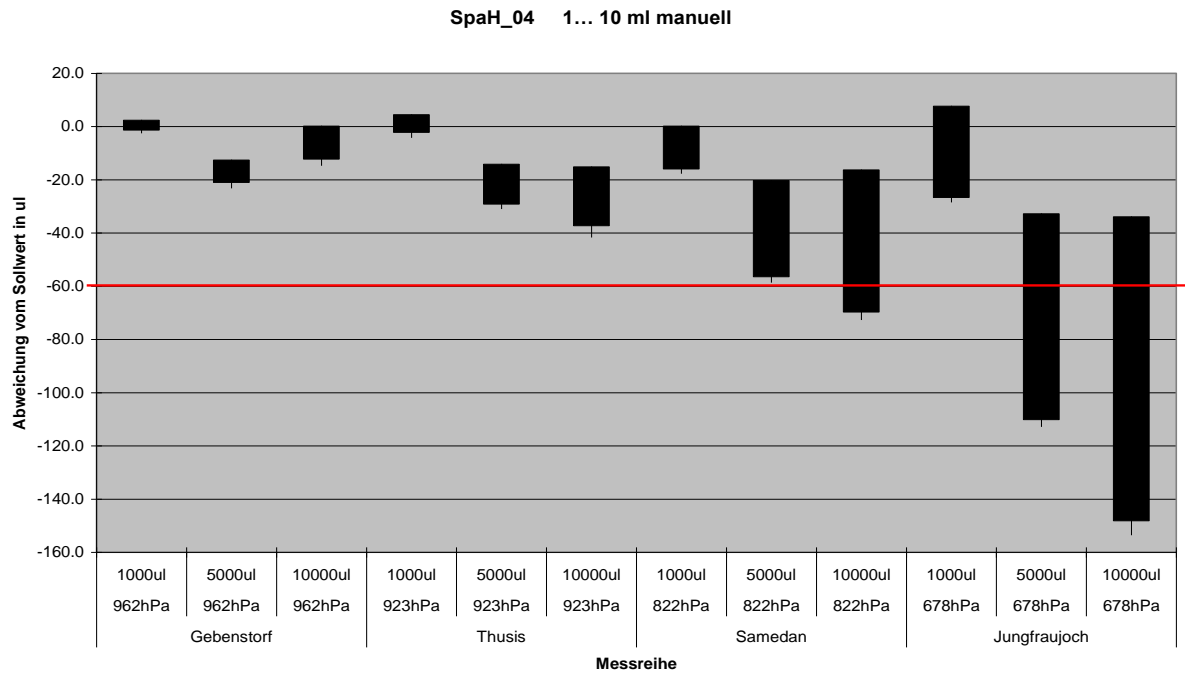


Abbildung 10: Ergebnisse für 1 bis 10 ml, manuell

9. Zusammenfassung

- Die Höhe über Meer des Messortes beeinflusst das Messergebnis wesentlich. Ist eine Pipette bei 1013 hPa korrekt einjustiert ($V_{20} = V_s$), wird die gleiche Pipette bei einem Luftdruck von ca. 850 hPa (ca. 1500müM) ein effektives Volumen abgeben, welches nahe der Untergrenze der zulässigen systematischen Abweichung gemäss ISO 8655 liegt.
- Kolbenhubpipetten mit Luftpolster sollten am vorgesehenen Einsatzort justiert und kalibriert werden.
- Elektronische Pipetten können den Korrekturfaktor so einsetzen, dass die Pipette je nach Luftdruck oder die Höhe über Meer den Fehler ausgleicht. Der Benutzer muss dazu den Luftdruck oder die Höhe über Meer einprogrammieren.
- Für Vergleichsmessungen kann der ermittelte Messwert korrigiert werden, es müssen jedoch das genaue Totvolumen und die Steighöhe bekannt sein. Diese zwei Werte müssen im Messunsicherheitsbudget berücksichtigt werden.

10. Danksagung

Nachfolgende Personen und Institutionen haben die Studie durch Ratschläge und Kontrollen wesentlich unterstützt:

Rainer Feldmann, BRAND GMBH + CO KG, D-97877 Wertheim, Deutschland

Karl Heinz Lochner, Fraunhofer-Institut für Silicatforschung ISC, Aussenstelle
Bronnbach, D-89877 Wertheim, Deutschland

Barbara Werner, Zentrum für Messen und Kalibrieren GmbH, D-06766
Bitterfeld-Wolfen, Deutschland

Uwe Dunker und Michael Bremer, Eppendorf AG, D-22339 Hamburg,
Deutschland

Nachfolgende Organisationen haben die Studie ermöglicht, indem sie die Infrastruktur für das Messlabor zur Verfügung stellten:

Spaelti-TS AG, Wiesenstrasse 13, CH-5412 Gebenstorf, Schweiz

Krankenhaus Thusis, Alte Strasse 37, CH-7430 Thusis, Schweiz

Spital Oberengadin, Via Nuova 3, CH-7503 Samedan, Schweiz

High Altitude Research Stations Junfrauoch und Gornergrat, Siedlerstrasse 5,
CH-3012 Bern, Schweiz

11. Anhänge /Referenzen

Anhang 1: Messresultate der einzelnen Messungen in Diagrammform
(12 Diagramme)

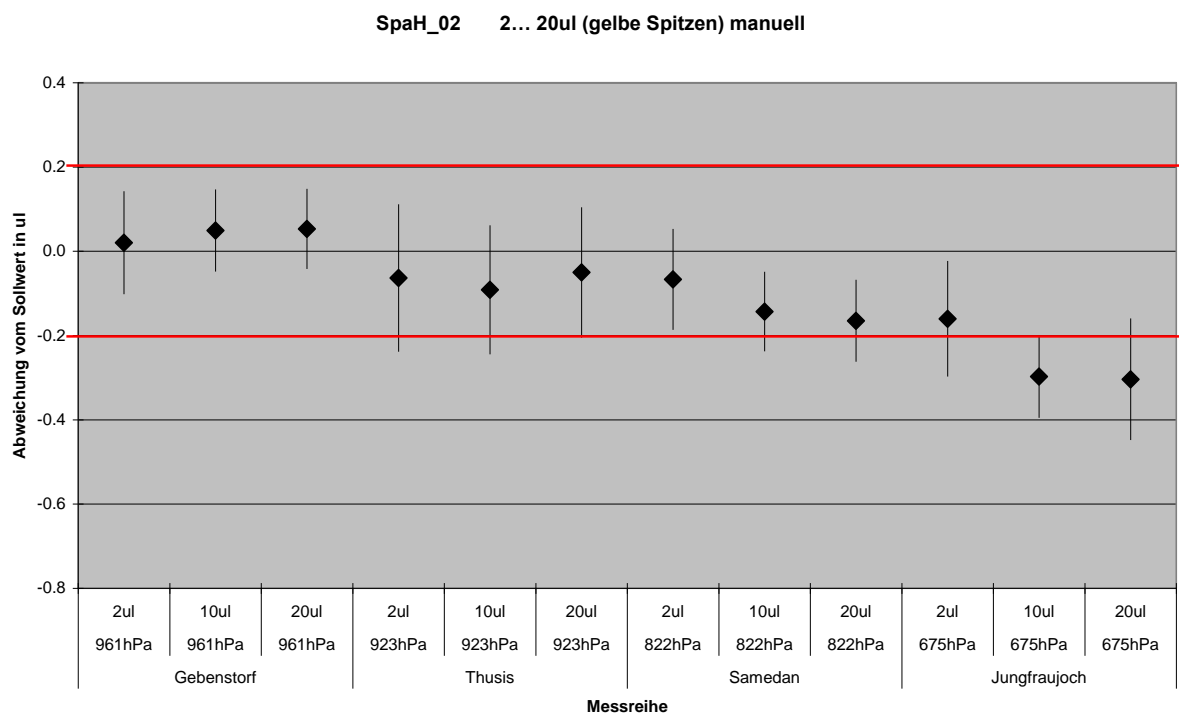
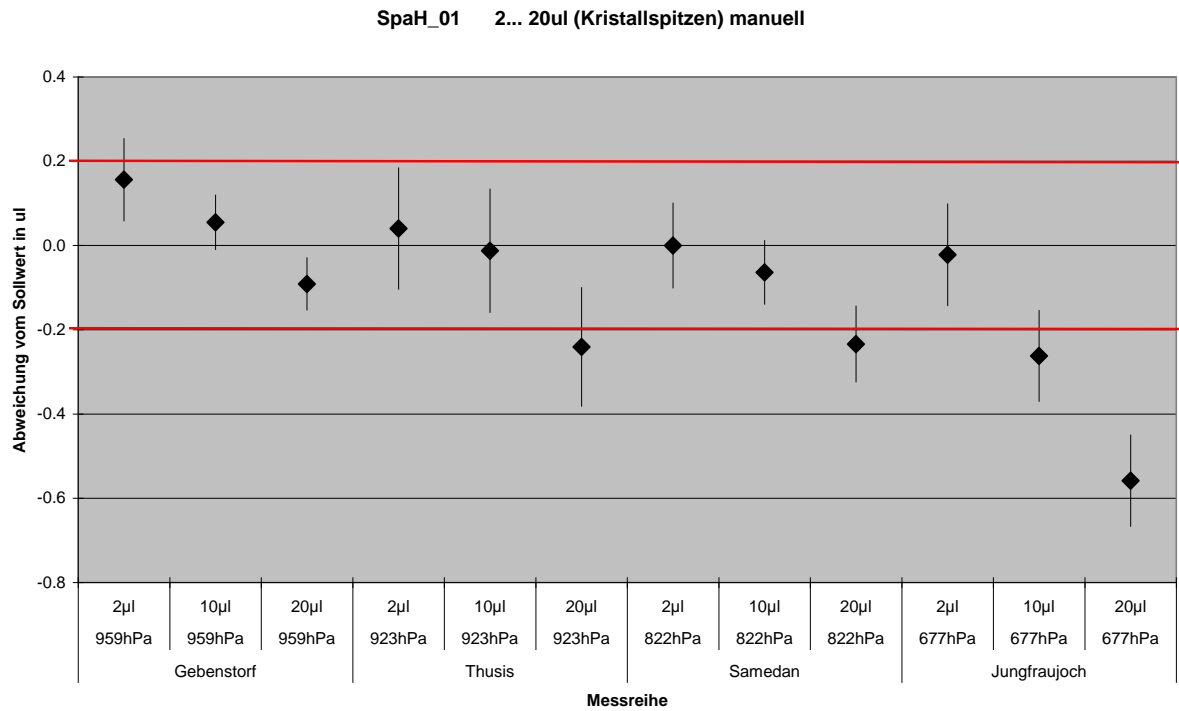
[1] ISO 8655:2002; Piston operated volumetric apparatus

[2] [DKD-Richtlinie DKD-R 8-1; Kalibrierung von Kolbenhubpipetten,12/2011](#)

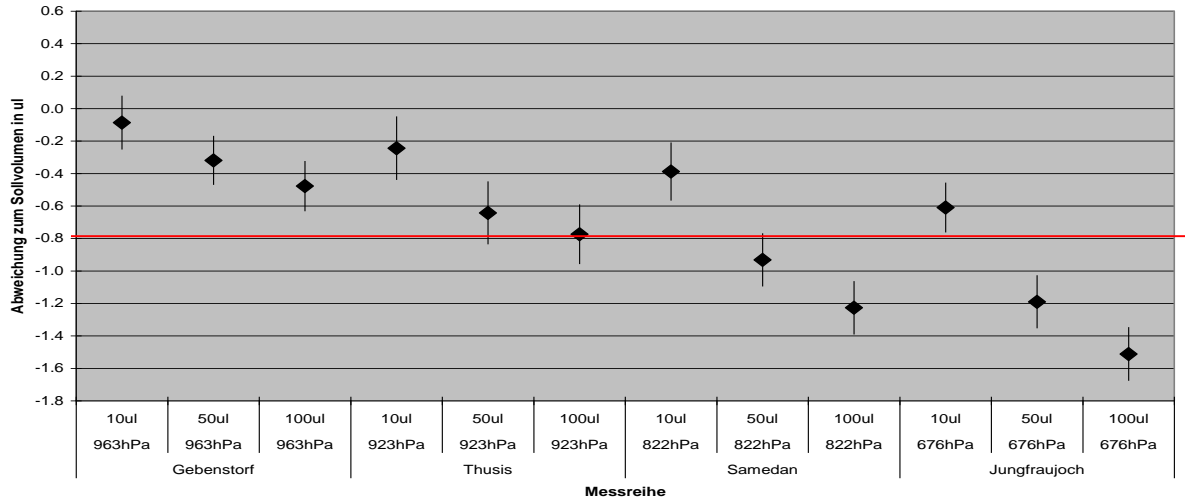
Anhang 1:

Messergebnisse

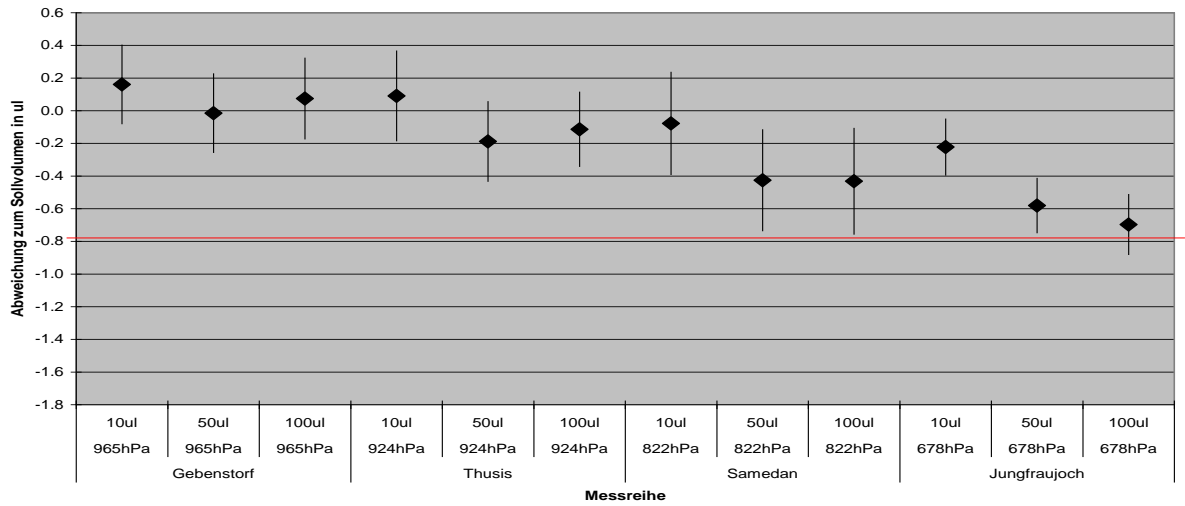
Einfluss der Höhenlage auf das Volumenergebnis einer Kolbenhubpipette mit Luftpolster
Studie von Spaelti-TS AG, Wiesenstrasse 13, CH-5412 Gebenstorf 31.Dez. 2011



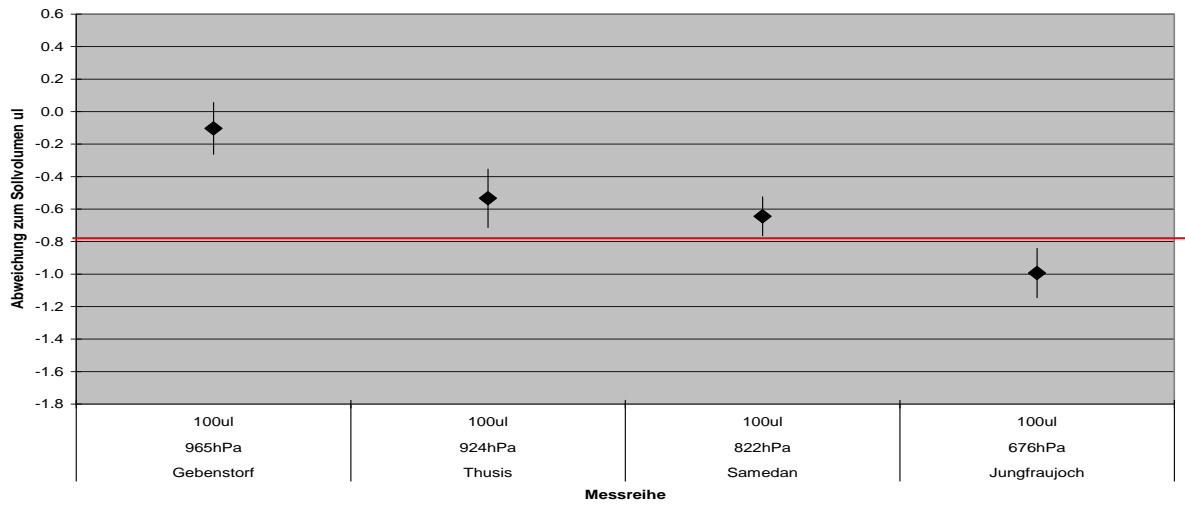
SpaH_06 10... 100ul manuell



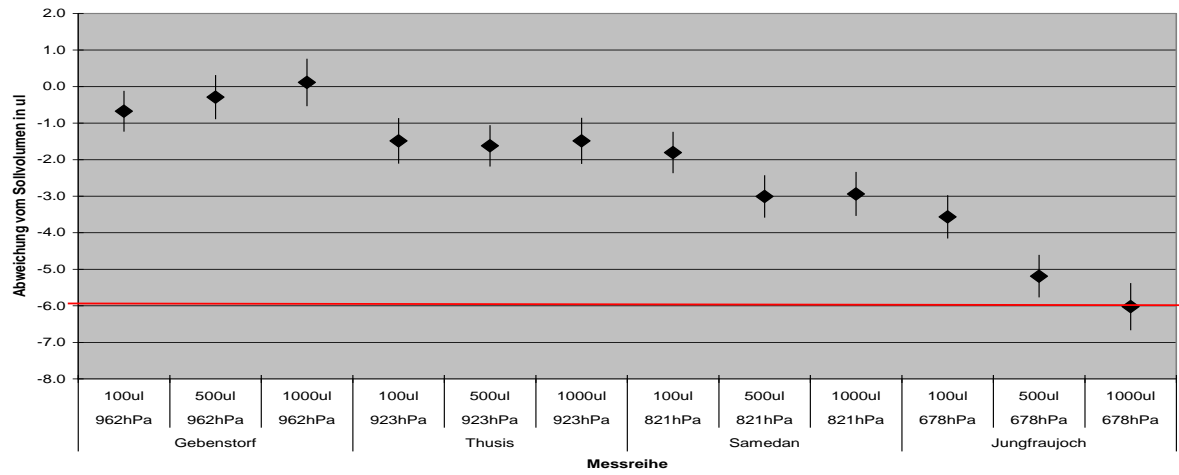
SpaH_11 10... 100ul manuell



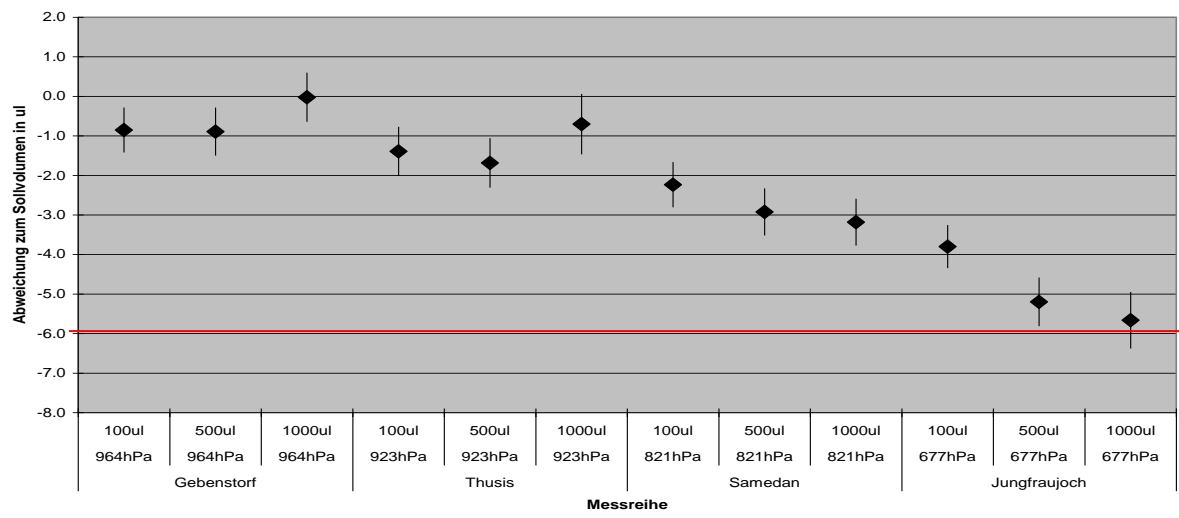
SpaH_12 100ul fix



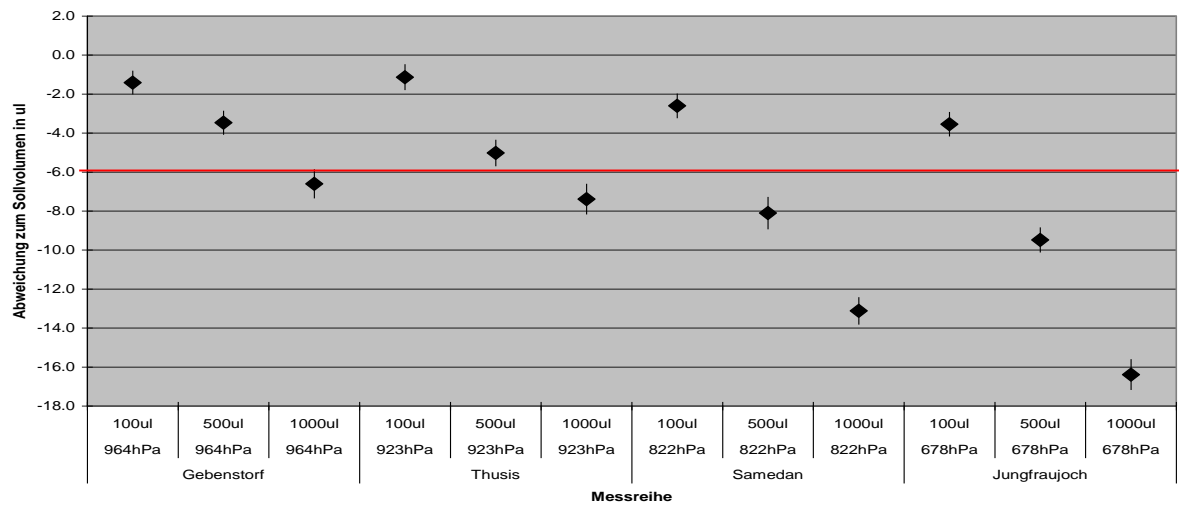
SpaH_03 100... 1000ul elektronisch



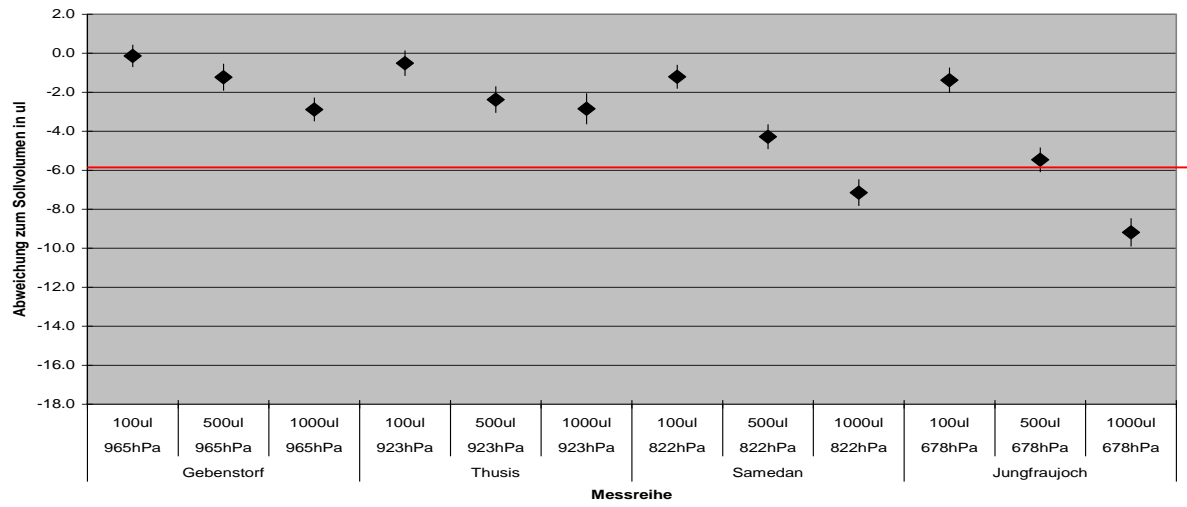
SpaH_07 100... 1000ul elektronisch



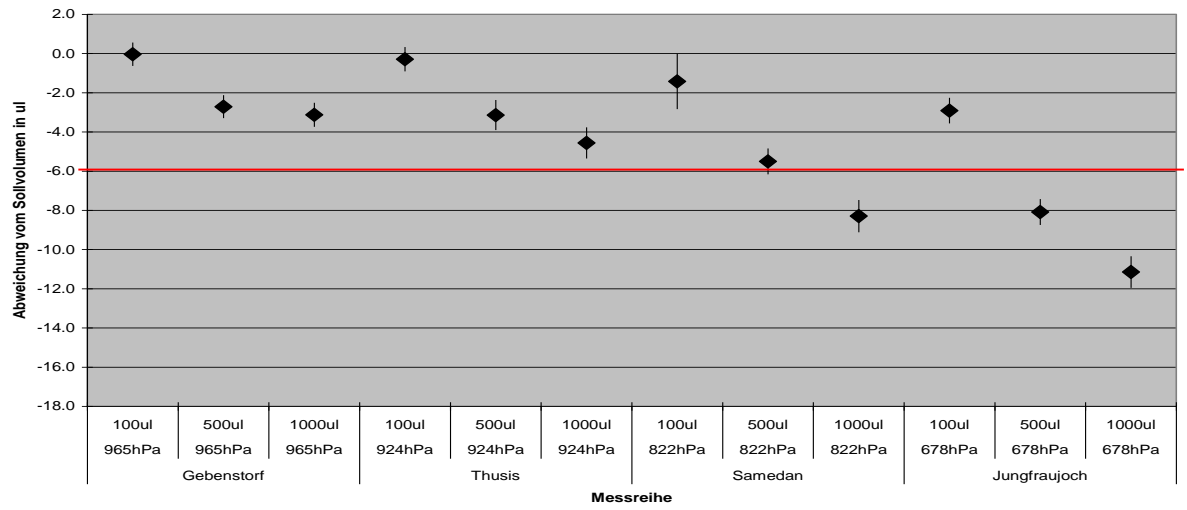
SpaH_05 100... 1000ul manuell



SpaH_09 100... 1000ul manuell



SpaH_10 100... 1000ul manuell



SpaH_04 1... 10 ml manuell

